12-10 A4046K

Code No. NYPBR01 500ml x 1 本
保存温度 4℃

PVDF Blocking Reagent for *Can Get Signal* ®

本試薬は、ウェスタンブロッティングでの使用に最適化された、高性能ブロッキング試薬です。本試薬は、人工合成ポリマーを主成分とし、タンパク性の成分を含みません。弊社免疫反応促進試薬 *Can Get Signal* ® Immunoreaction Enhancer Solution と組み合わせてご使用いただくことで、高いブロッキング効果を得ることができ、良好な S/N 比の結果を得ることが可能です。

◆特長◆

1. 高いブロッキング性能
本試薬は、PVDF 膜を用いるウェスタンブロット解析での使用に最適化されており、高いブロッキング性能を発揮します。免疫反応促進試薬 *Can Get Signal* ®Immunoreaction Enhancer Solution を用いるウェスタンブロット解析に適しています。

2. プロテインフリー
本試薬は合成ポリマーであり、タンパク質性の成分を含有しないため、リン酸化タンパク質の検出などに最適です。

3. マスキング効果を低減
本試薬は、スキムミルク・ゼラチン等のブロッキング剤使用時に問題となる、抗原のマスキングによるシグナル低下が少なく、高いシグナル/ノイズ比を得ることができます。

1. 内容物

品名	内容量	保存温度
PVDF Blocking Reagent for *Can Get Signal* ®	500ml	4°C

※本製品には 0.1%アジ化ナトリウムが含まれています。

2. 安全上の注意

本製品は、研究用試薬です。診断および臨床検査用試薬として使用しないでください。また、本製品の使用にあたっては、実験室での一般の注意事項を厳守し、安全に留意してください。関係する実験において、人体に有害な試薬を扱う場合も予想されます。各試薬に添付されている注意書き、機器･器具に添付されている取扱説明書の指示を順守し、必要に応じて適切な保護具をご使用いただきますようお願いいたします。

<製品の内容･技術に関するお問合せ>
東洋紡(株) ライフサイエンス事業部 テクニカルライン
TEL 06-6348-3888 FAX 06-6348-3833
開設時間 9:00~12:00, 13:00~17:00 (土、日、祝日を除く)
E-mail: tech_osaka@toyobo.jp
[URL] http://www.toyobo.co.jp/bio

3. 使用方法

本製品は、ウェスタンブロッティングのブロッキングにおいて、希釈せずにそのまま用いることができます。トランスファー終了後の膜を、本製品に浸し、通常のブロッキング操作を行ってください。なお、抗体の種類、濃度等によっては、2 倍～5 倍程度に希釈しても十分なブロッキング効果が得られる場合があります(希釈には蒸留水を用いてください)。

以下のプロトコールは、使用法の一例です。

(1) 転写終了後の膜を、洗浄バッファー(TBS-T など)を入れたプラスチック容器に移し、室温で 5 分間振とうして膜を洗浄します。

(2) 洗浄バッファーを捨て、本製品を容器に膜が十分浸る程度に注ぎます。
※ハイブリパック等を用いて少ない液量で実施することも出来ます。

(3) 室温～37°C で 1 時間振とう、または 4°C で overnight 静置し、ブロッキングを行います。
※ブロッキング効果を上げたい場合には、温度を高めに設定することをお薦めします。

(4) ブロッキング終了後、膜を洗浄バッファーで 2 回リンスし、更に洗浄バッファーで 15 分振とう x1 回、5 分間振とう x2 回のステップで洗浄します。

(5) *Can Get Signal* ®を使用し、一次抗体反応を実施します。
※*Can Get Signal* ®の使用法は、製品に添付されている説明書をお読み下さい。

◆ご注意◆

・ 本製品で使用できる膜は、PVDF(ポリフッ化ビニリデン)膜、ニトロセルロース膜などです。特に PVDF 膜で強い効果を発揮します。ウェスタンブロッティング以外の用途(ELISA 等)にもご使用いただけます。

・ 本製品は、*Can Get Signal* ®を使用したウェスタンブロッティングに最適化されています。通常の抗体希釈バッファーを用いたウェスタンブロッティングにもご使用いただけますが、バッファーの成分によってはブロッキング効果が多少低下する場合があります。

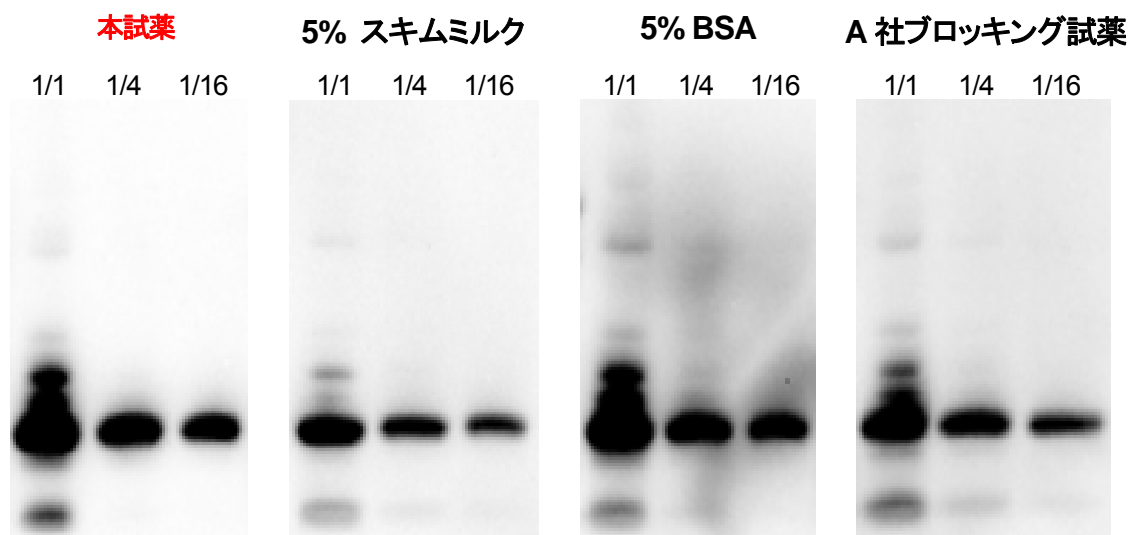
・ 本製品には、0.1%アジ化ナトリウムが含まれています。通常の使用法では反応に影響はありませんが、一次抗体にペルオキシダーゼが標識された抗体を用いる際、ブロッキング後の洗浄が不十分ですと酵素活性に影響を及ぼす場合があります。上記プロトコールに従って洗浄操作を十分に行ってください。

<製品の内容・技術に関するお問合せ>
東洋紡(株) ライフサイエンス事業部 テクニカルライン
TEL 06-6348-3888 FAX 06-6348-3833
開設時間 9:00~12:00, 13:00~17:00 (土、日、祝日を除く)
E-mail: tech_osaka@toyobo.jp
[URL] http://www.toyobo.co.jp/bio

4.　実施例

実施例1: ウェスタンブロッティングにおいて、本製品および既存のブロッキング剤 (5%スキムミルクおよびBSA)、A 社液状ブロッキング試薬を用いて、ブロッキング性能の比較を行いました。抗体反応には、希釈液として弊社免疫反応促進試薬 *Can Get Signal*® Immunoreaction Enhancer Solution (NKB-101)を使用しました。

◆反応条件◆

SDS-PAGE:	8-16%ポリアクリルアミドゲル、15 mA x 90 分
トランスファー:	0.8 mA / cm^2 室温 60 分 (セミドライ法)
ブロッキング:	室温 60 分振とう
サンプル:	HeLa 細胞溶解液: $2x10^4$ cells / well (1/1) および 4 倍段階希釈 x2 (1/4, 1/16)
一次抗体:	anti-ERK2 (C-14)ウサギポリクローナル抗体 (0.1 ng / µl) in *Can Get Signal*® solution 1
二次抗体:	HRP 標識 anti-rabbit IgG 抗体 (0.02 ng / µl) in *Can Get Signal*® solution 2
検出試薬:	ECL plus (GE Healthcare)

◆結果◆

ブロッキング剤として本製品を用いた場合において、最もバックグラウンドが低く、かつシグナルの低下のない、最も良好な結果を得ることができました。

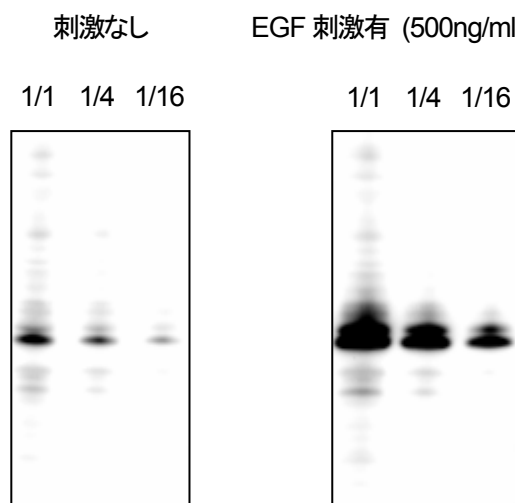
<製品の内容・技術に関するお問合せ>
東洋紡(株) ライフサイエンス事業部　テクニカルライン
TEL 06-6348-3888　　FAX 06-6348-3833
開設時間 9:00~12:00, 13:00~17:00 (土、日、祝日を除く)
E-mail: tech_osaka@toyobo.jp
[URL] http://www.toyobo.co.jp/bio

実施例 2: 本製品をブロッキング剤として使用したウェスタンブロットによって、リン酸化タンパク質(p-ERK1、p-ERK2)の検出を行いました。抗体反応には、希釈液として弊社免疫反応促進試薬 *Can Get Signal* ® Immunoreaction Enhancer Solution (NKB-101)を使用しました。

◆反応条件◆

SDS-PAGE: 8-16%ポリアクリルアミドゲル、15 mA x 90 分
トランスファー: 0.8 mA / cm^2 室温 60 分 (セミドライ法)
ブロッキング: 室温 60 分振とう
サンプル: EGF 刺激 HeLa 細胞溶解液: $2x10^4$ cells / well (1/1) および 4 倍段階希釈 x2 (1/4, 1/16)
一次抗体: anti-p-ERK (E-4) マウスモノクローナル抗体 (0.2 ng / μl) in *Can Get Signal* ® solution 1
二次抗体: HRP 標識 anti-mouse IgG 抗体 (0.01 ng / μl) in *Can Get Signal* ® solution 2
検出試薬: ECL plus (GE Healthcare)

刺激なし　　EGF 刺激有 (500ng/ml, 5min)

1/1 1/4 1/16　　1/1 1/4 1/16

◆結果◆

非特異バンドの出現も少なく、p-ERK1 (44kDa)、p-ERK2 (42kDa)それぞれに由来する 2 本のバンドが明瞭に確認されました。EGF 刺激の有無による差も明確に確認できます。また、スキムミルク等をブロッキング剤として使用した際に問題となる、バックグラウンドの増加も認められませんでした。

5. 関連商品

品名および内容	包装	保存温度	Code No.	価格
Can Get Signal ® Solution 1 for primary antibody Solution 2 for secondary antibody	各 250ml 各 50ml	4°C	NKB-101 NKB-101T	¥30,000 ¥10,000
Can Get Signal ® Solution 1 for primary antibody	250ml	4°C	NKB-201	¥17,000
Can Get Signal ® Solution 2 for secondary antibody	250ml	4°C	NKB-301	¥17,000

【製造元】 日油株式会社
【発売元】 東洋紡株式会社

<製品の内容・技術に関するお問合せ>
東洋紡(株) ライフサイエンス事業部 テクニカルライン
TEL 06-6348-3888 FAX 06-6348-3833
開設時間 9:00~12:00, 13:00~17:00 (土、日、祝日を除く)
E-mail: tech_osaka@toyobo.jp
[URL] http://www.toyobo.co.jp/bio